基础研究

# 核因子I-C降低皮肤成纤维细胞对TGF-β的敏感性

张亮平[1,2],王 洋[1],雷 睿[1],沈 辉[1],沈毅忱[1],吴智南[1],徐靖宏[1]
[1]浙江大学医学院附属第一医院整形外科,浙江 杭州 310003;[2]武警浙江省总队嘉兴医院烧伤整形科,浙江 嘉兴 314000

**摘要:目的** 探讨核因子I-C(NFI-C)对血小板源性生长因子(PDGF)促进皮肤成纤维细胞表达TGF-β受体Ⅱ(TβRⅡ)作用的影响。**方法** 含有NFI-C序列的慢病毒转染人皮肤成纤维细胞(HFF-1);根据细胞生长活性及转染效率筛选最佳转染复数(MOI);PDGF-BB刺激体外培养的HFF-1细胞、转染NFI-C的HFF-1细胞以及转染阴性病毒的HFF-1细胞,并设立转染NFI-C但不用PDGF处理的细胞;以不做任何处理的HFF-1细胞作为空白对照组;采用western blot、RT-qPCR测定各组细胞TβRⅡ的表达。数据采用单因素方差分析、LSD-t及SNK-q检验对各组数据进行分析。**结果** 慢病毒转染HFF-1最适MOI为50。PDGF处理的HFF-1细胞表达TβRⅡ高于空白对照组($P$<0.05);在PDGF作用下,转染NFI-C的HFF-1细胞表达TβRⅡ低于未转染的细胞($P$<0.05);阴性病毒无明显抑制作用($P$>0.05);单纯转染NFI-C的HFF-1细胞表达TβRⅡ与空白对照组无显著性差异($P$>0.05)。**结论** NFI-C能抑制PDGF对TβRⅡ的上调作用,降低皮肤成纤维细胞对TGF-β的敏感性。
**关键词:**核因子I-C;血小板源性生长因子;转化生长因子-β;转化生长因子-β受体Ⅱ;瘢痕

## Nuclear factor I-C inhibits platelet-derived growth factor-induced enhancement of dermal fibroblast sensitivity to TGF-β

*ZHANG Liangping[1,2], WANG Yang[1], LEI Rui[1], SHEN Hui[1], SHEN Yichen[1], WU Zhinan[1], XU Jinghong[1]*
*[1]Department of Plastic Surgery, First Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China; [2]Jiaxing Hospital of Zhejiang Armed Police Corps, Jiaxing 314000, China*

**Abstract: Objective** To investigate the effect of nuclear factor I-C (NFI-C) on platelet-derived growth factor (PDGF)-induced up-regulation of TGF-β receptor II (TβRII) in dermal fibroblasts. **Methods** A lentiviral vector containing NFI-C sequence (Lenti-GFP-NFI-C) was transfected into a human foreskin fibroblast cell line (HFF-1). Cultured HFF-1 cells, cells transfected with Lenti-GFP-NFI-C, and cells transfected with a negative virus were stimulated with PDGF-BB, and Western blotting and RT-qPCR were used to detect the expression levels of TβRII in the treated cells. **Results** PDGF treatment significantly increased the expression level of TβRII in HFF-1 cells ($P$<0.05). The cells transfected with Lenti-GFP-NFI-C expressed a significantly lower level of TβRII than non-transfected cells in response to PDGF stimulation ($P$<0.05), but the negative virus showed no such inhibitory effect ($P$>0.05). No significant difference was found in the expression level of TβRII protein between cells transfected with Lenti-GFP-NFI-C-transfection before PDGF stimulation and the blank control cells. **Conclusion** NFI-C can inhibit PDGF-induced up-regulation of TβRII and thus reduce the sensitivity of the dermal fibroblasts to TGF-β.
**Key words:** nuclear factor I-C; platelet-derived growth factor; transforming growth factor-β; transforming growth factor-β receptor II; scar

瘢痕是皮肤创伤愈合的必然结果,给患者带来了外观畸形、感觉异常甚至器官功能障碍,一直没有特别有效的治疗方法,主要是因为对其机制研究尚不清楚。目前普遍认为转化生长因子-β(TGF-β)介导的信号通路是促使创伤愈合、瘢痕形成关系最密切的机制[1];TGF-β可刺激皮肤成纤维细胞(FB)增殖并分泌细胞外基质(ECM),导致瘢痕生成;这种作用一旦失控,则伤口过度愈合并发展为病理性瘢痕[2]。血小板源性生长因子(PDGF)是创伤后释放的另一种重要的细胞因子,能够促进细胞的趋化、分裂与增殖,在创伤修复过程中起重要的作用[3]。有研究显示,PDGF可以促进FB表达TGF-β受体Ⅱ(TβRⅡ),使FB对TGF-β的敏感性增加[4-5],与TGF-β协同促进瘢痕形成。核因子Ⅰ(NFI)是哺乳动物体内广泛存在的一类转录因子,目前发现的有A、B、C、X四种亚型。有研究表明,敲除NFI-C后,PDGF通路及TGF-β通路明显增强[6,7],导致伤口愈合加速;但NFI-C过表达对这两条通路及瘢痕形成的影响未见报道。本实验首次通过慢病毒转染技术构

**收稿日期:**2015-01-22
**基金项目:**国家自然科学基金(81471874,81171815);浙江省科技计划项目(2012C23080)
Supported by National Natural Science Foundation of China (81471874, 81171815).
**作者简介:**张亮平,硕士研究生,主治医师,E-mail: zlp982440@163.com
**通信作者:**徐靖宏,博士,主任医师,E-mail: xujinghong68@163.com

建NFI-C过表达FB,研究NFI-C是否可抑制PDGF对TβRⅡ的上调作用,降低伤口愈合过程中FB对TGF-β的敏感性,从而为临床改善瘢痕及抗病理性瘢痕的基因治疗提供新思路。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 细胞株 人皮肤成纤维细胞株HFF-1细胞(ATCC)。

1.1.2 主要试剂和材料 DMEM培养基、胎牛血清、青霉素、链霉素、胰酶(Gibco);;PDGF-BB(PeproTech);Blasticidin 、Trizol液(Invitrogen);Polybrene(Sigma);MTS试剂盒(Promega);细胞裂解液、蛋白酶抑制剂、BCA蛋白定量试剂盒、ECL Prime蛋白印迹试剂(Thermo);0.45 μm PVDF膜(Millipore);抗人TβRⅡ、抗人NFI-C、抗人GAPDH、辣根过氧化物酶标记的二抗(CST);逆转录试剂盒(Fermentas);SYBR Green Super Mix(Bio-rad);TβRⅡ引物(上游:5'-GTC GCT TTG CTG AGG TCT AT AA-3',下游:5'-CTC TGT CTT CCA AGA GGC AT AC-3')及内参基因GAPDH引物(上游:5'-AGG TCC ACC ACT GAC ACG TT-3',下游:5'-GCC TCA AGA TCA TCA GCA AT-3')(上海生工)。

1.1.3 主要仪器 $CO_2$恒温培养箱、NanoDrop 3300微量紫外分光光度计(Thermo);普通光学显微镜和IMT-2倒置显微镜(OLYMPUS);EXL808全自动酶标仪(BIO-TEK);ABI 7500 Real Time PCR System(ABI)。

### 1.2 PDGF对人皮肤成纤维细胞表达TβRⅡ的影响

HFF-1细胞培养于含15%胎牛血清、1%双抗(青霉素+链霉素)的DMEM高糖培养基,置于37 ℃、5% $CO_2$饱和湿度培养箱培养。每隔2~3 d换液1次,当细胞长满90%培养皿时采用胰酶消化,以1∶3的比例传代。取P3代HFF-1细胞,加入30 ng/mL的PDGF-BB作用24 h,采用Western blot检测PDGF-BB处理及未处理HFF-1细胞表达TβRⅡ的差异。

### 1.3 慢病毒NFI-C最适转染复数值测定

人NFI-C序列为NCBI数据库CR536507.1(1500 bp)。慢病毒NFI-C(Lenti-GFP-NFI-C)以及含有空载体的阴性病毒(Lenti-GFP)均委托美国Invitrogen ™—Life Technologies公司(上海)构建。取P3代、对数生长期的HFF-1按$5\times10^3$/孔接种于96孔板,贴壁后更换含6 μg/mL Polybrene的无血清培养基,将Lenti-GFP-NFI-C按转染复数(multiplicity of infection, MOI)0、5、10、30、50、100转染HFF-1,每组设15孔,37 ℃、5% $CO_2$下转染6 h后更换完全培养液。常规培养8 d,于0、2、4、6、8 d采用MTS法于490 nm测吸光度值,各时相点每MOI取3孔测定;转染96 h后于荧光倒置显微镜下观察表达GFP的细胞,以GFP阳性细胞占总细胞的比例作为转染效率;以生长活性抑制低、感染效率高确定最佳MOI值。

### 1.4 慢病毒转染FB后NFI-C的表达

取对数生长期P3代HFF-1细胞,用无血清DMEM培养基洗1次,换无血清培养基孵育24 h使细胞同步于$G_0$期,然后弃上清,分成2个实验组,即Lenti-GFP-NFI-C转染组和未转染组;转染组按最佳MOI进行转染。转染6 h后更换为完全培养基,于第4天采用western blot法测定两组细胞NFI-C蛋白的表达。

### 1.5 慢病毒转染对PDGF促进FB表达TβRⅡ的影响

取对数生长期P3代HFF-1细胞,转染前准备同上,分为5组:(1)NFI-C转染组:将Lenti-GFP-NFI-C按照最佳MOI转染HFF-1细胞,待筛选出稳定转染细胞后用30 ng/mL PDGF-BB刺激24 h;(2)阴性病毒组:将Lenti-GFP按照最佳MOI转染HFF-1细胞,待筛选后用30 ng/mL的PDGF-BB刺激24 h;(3)PDGF组:HFF-1细胞单用30 ng/mL PDGF-BB刺激24 h;(4)单纯NFI-C转染组:将Lenti-GFP-NFI-C按照最佳MOI转染HFF-1细胞,并筛选稳定转染细胞;(5)空白对照组:不做任何处理。转染的细胞于转染48 h后加入0.05 μg/mL Blasticidin筛选稳转细胞,每2~3 d换液,1周后换完全培养基并在(1)、(2)、(3)组中加入PDGF-BB继续培养24 h。

### 1.6 Western blot法测定NFI-C和TβRⅡ蛋白的表达

取1.2、1.4、1.5中各组细胞用冰预冷的PBS重复洗涤2次,吸干洗涤液。加入细胞裂解液及1%蛋白酶抑制剂冰上裂解15 min,收集裂解液于4 ℃、1400 r/min离心7.5 min。收集上清液,BCA法进行蛋白定量。按蛋白量40 μg/孔进行10% SDS-PAGE凝胶电泳(80 V 20 min, 150 V 约1.5 h)并转膜(400 mA 1.5 h)至PVDF膜。于5%脱脂奶粉室温封闭1 h,剪膜后分别加入1∶1000稀释的一抗,4 ℃过夜;TBST洗膜(5 min×3次),加相应的辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育1 h;充分洗膜后用ECL Prime蛋白印迹试剂进行化学发光显色,X片曝光显影。用美国Bio-Rad公司Quantity One软件对Western条带进行定量分析,读取积分光密度值。

### 1.7 荧光定量PCR法测定TβRⅡ mRNA的表达

取1.5中各组细胞,用Trizol液常规提取总RNA,使用微量紫外分光光度计测定RNA的含量及260和280 nm的吸光度(A)值,控制$A_{260}/A_{280}$在1.9~2.1。取2 μg总RNA参照逆转录试剂盒说明书进行cDNA合成,然后应用ABI 7500 Real Time PCR System进行扩增。PCR反应体系:cDNA 50 ng,2×SYBR Green Super Mix 12.5 μL,引物300 nmol/L,补水至25 μL。反应条件:95 ℃预变性30 s,95 ℃变性10 s,60 ℃复性30 s,循环40次。设定65 ℃为荧光检测点,进行扩增。

用基于内参物GAPDH的相对定量分析,目的基因mRNA表达量用$2^{-\Delta\Delta Ct}$计算转录水平的差异。

### 1.8 统计学分析

所有实验数据均为独立重复3次实验后得到的平均值,数据分析用SPSS 19.0软件以均数±标准差表示,采用单因素方差分析、LSD-*t*检验分析各MOI组转染效率及生长活性数据;单因素方差分析、SNK-q检验分析各处理组组间差异,*P*<0.05为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PDGF促进皮肤成纤维细胞表达TβRⅡ(图1)

HFF-1细胞经PDGF-BB处理后,其TβRⅡ条带与GAPDH灰度值比值为0.59±0.03,高于未处理细胞0.29±0.05,且差异有统计学意义(*n*=3,*P*<0.05)。

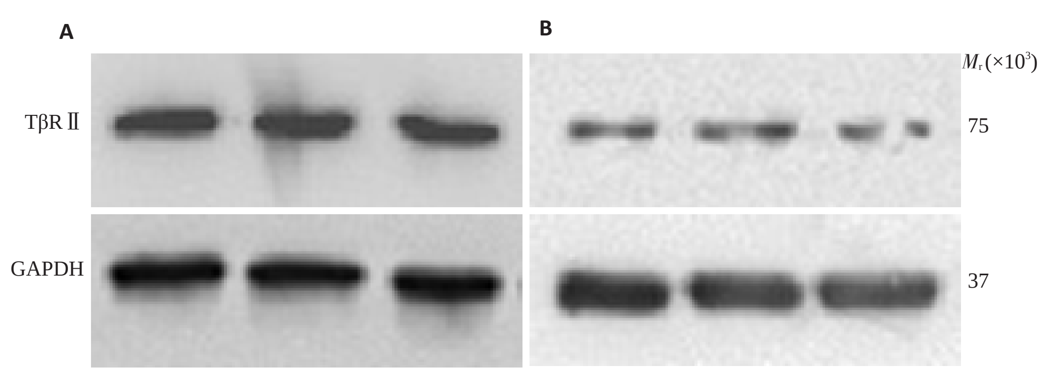



图1 PDGF作用HFF-1细胞24 h的TβRⅡ变化

Fig.1 Expression of TβR II in HFF-1 cells 24 h after PDGF treatment. *A*: PDGF-treated cells; *B*: Untreated cells.

### 2.2 慢病毒最佳转染条件确定

慢病毒转染后3 d,细胞GFP表达良好(图2);转染细胞NFI-C条带与GAPDH灰度值比值为1.07±0.13(图3A),高于未转染细胞0.23±0.03(图3B),差异有统计学意义(*n*=3,*P*<0.05)。不同MOI(0、5、10、30、50、100)转染HFF-1细胞的转染效率及生长活性分别(图4,5),结果发现MOI从50增至100时细胞生长抑制明显加重,而转染效率升高差异无统计学意义(*P*>0.05),因而最佳MOI为50。

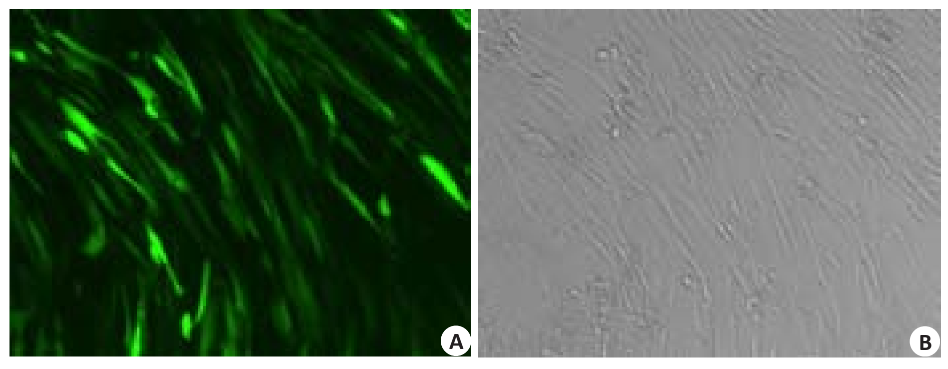



图2 慢病毒转染HFF-1细胞后表达GFP

Fig.2 Expression of GFP in HFF-1 cells after lentiviral transfection (Original magnification: ×100). *A*: HFF-1 cells expressing GFP; *B*: Bright field image of the same field of vision.

### 2.3 NFI-C抑制PDGF促TβRⅡ生成作用

Western blot显示:NFI-C转染组TβRⅡ条带与GAPDH的比值为0.39±0.06(图6A),低于阴性病毒组(0.62±0.11)(图6B)和PDGF组(0.66±0.10)(图6C),差异具有统计学意义(*n*=3,*P*<0.05);且阴性病毒组与PDGF组之间无显著性差异(*n*=3,*P*>0.05);单纯NFI-C转染组(0.322±0.002)(图6D)与空白对照组(0.325±0.019)(图6E)之间亦无显著性差异(*n*=3,*P*>0.05)。RT-qPCR显示:NFI-C转染组TβRⅡ mRNA水平与GAPDH的比值为0.24±0.12,低于阴性病毒组(0.73±0.13)和PDGF组(0.81±0.12),差异具有统计学意义(*n*=3,*P*<0.05);阴性病毒组与PDGF组之间亦无显著性

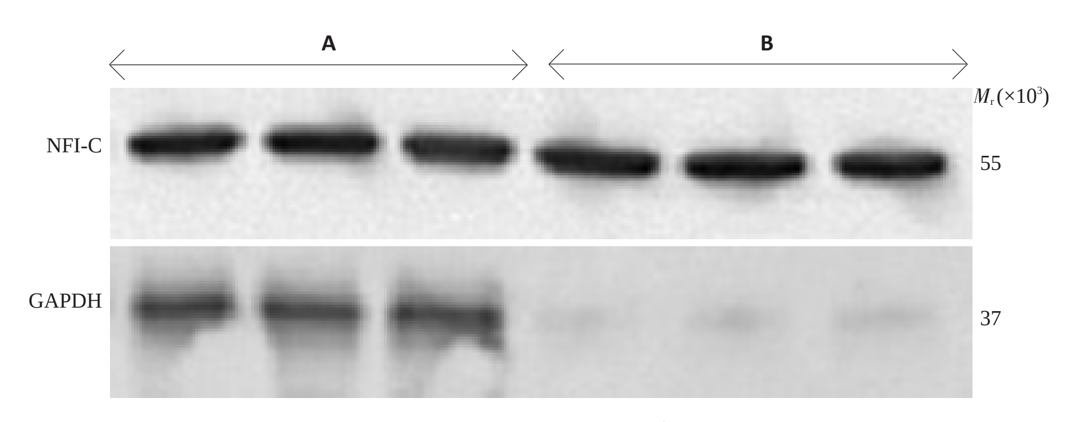



图3 Lenti-GFP-NFI-C转染HFF-1细胞后NFI-C的表达情况

Fig. 3 Expression of NFI-C in HFF-1 cells after transfection with Lenti-GFP-NFI-C. *A*: Lenti-GFP-NFI-C -transfected group; *B*: Non-transfected group.

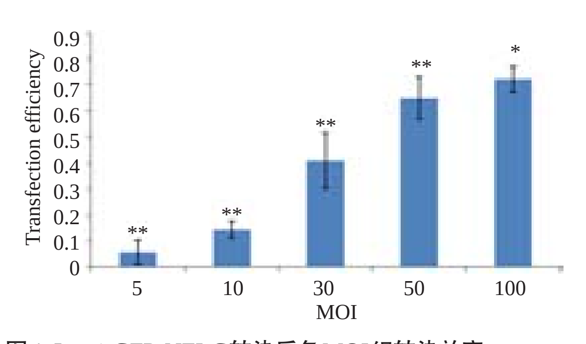



图4 Lenti-GFP-NFI-C转染后各MOI组转染效率

Fig.4 Changes of transfection efficiency with increased MOIs of lenti-GFP-NFI-C. *$P$>0.05 *vs* MOI of 50; **$P$<0.05 for comparisons among MOIs of 5, 10, 30, and 50.

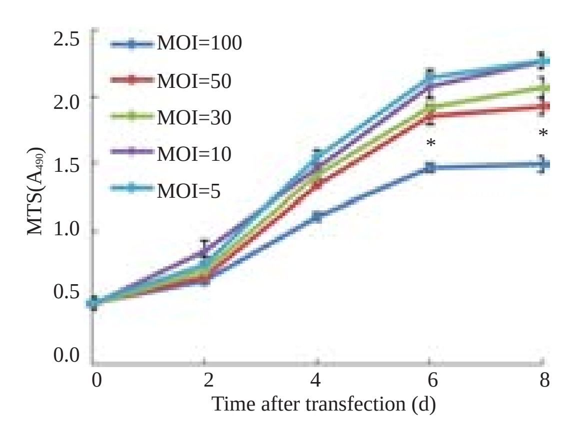



图5 Lenti-GFP-NFI-C转染后各MOI组细胞生长曲线

Fig.5 Cell growth curves after Lenti-GFP-NFI-C transfection with increased MOIs. *$P$<0.05 for comparison of MOI of 100 with MOIs of 5, 10, 30, and 50.

差异($n$=3,$P$>0.05);单纯NFI-C转染组(0.15±0.04)与空白对照组(0.17±0.04)之间亦无显著性差异($n$=3,$P$>0.05)。

## 3 讨论

皮肤创伤后,各种细胞因子激活FB是瘢痕形成的关键机制。目前普遍认为,在创伤后的早期从分子水平干预被激活的FB,可能会有效改善瘢痕的形成,并从根本上解决这一临床难题。因此,发现创伤早期干预分子来调节瘢痕形成具有重要的意义。TGF-β通路过度激活会导致FB过度增殖,ECM大量沉积,最终发展为病理性瘢痕[2],因而TGF-β通路是抗瘢痕治疗的重要靶位[8-9]。组织中的TGF-β必须先与细胞表面的TβRⅡ结合才能激活下游基因表达,因而TβRⅡ是TGF-β通路的关键转导分子;病理性瘢痕的重要特征之一是FB对TGF-β的敏感性上升;而通过竞争性抑制TβRⅡ则表现出良好的抗瘢痕效果[10]。

NFI家族属于转录复制因子,是编码位置特异性的转录因子,在众多真核生物不同组织、器官、细胞的基因表达方面均发挥着重要的作用[11]。NFI-C是NFI家族成员,早期研究发现,NFI-C的缺失可促进TGF-β1的表达,从而导致小鼠牙根发育异常[12]。Lee等[7]发现,在小鼠成牙质细胞中加入TGF-β1可诱导NFI-C降解。近年Plasari等发现,NFI-C敲除后TGF-β通路基因表达明显上调,伤口愈合明显加速[6]以及毛囊形成受阻[13],而毛囊等皮肤附属器缺失是瘢痕的特征之一;此外,该研究还发现敲除NFI-C的小鼠PDGF通路激活明显增强[6]。PDGF是创伤早期释放的一种细胞因子,具有促进FB增殖、ECM生成等作用[14],抑制PDGF及其受体可有效缓解肺及肾纤维化进程[15-16]。PDGF是由A、B两条链组成的二聚体,分别构成PDGF-AA、PDGF-AB和PDGF-BB 3种亚型;PDGF受体(PDGF receptor, PDGFR)也是由α、β两条链组成的二聚体;PDGF-AA只能结合αα二聚体受体,PDGF-AB能结合αα、αβ二聚体受体,PDGF-BB能结合αα、αβ、ββ二聚体受体,因而PDGF-BB在3者之中作用效果最强。PDGF 3种亚型均可上调TβRⅡ,增强FB对TGF-β的敏感性[4];而病理性瘢痕的形成往往伴随着PDGF表达异常增高以及FB对其反应性增强[14]。本研究采用PDGF-BB作用于人皮肤成纤维细胞,结果发现其TβRⅡ表达较未处理细胞明显升高,与文献报道一致。分析其原因,可能是由于

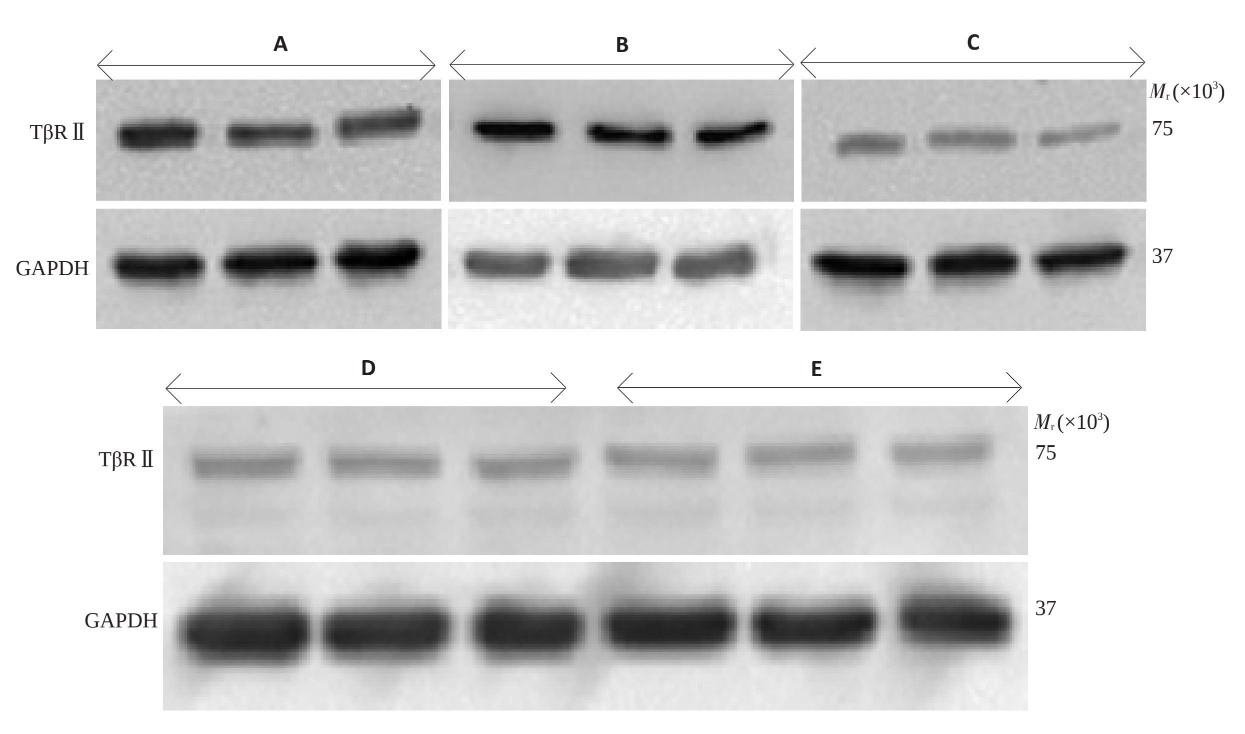



图6 PDGF作用Lenti-GFP-NFI-C转染、Lenti-GFP转染以及未转染的HFF-1细胞24 h后TβRⅡ蛋白水平变化

Fig.6 Expression of TβRII protien in different groups. *A*: Lenti-GFP-NFI-C-transfected cells; *B*: Negative control cells; *C*: PDGF-treated cells; *D*: Lenti-GFP-NFI-C-transfected cells without PDGF treatment; *E*: Blank control group.

PDGF可激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、细胞外调节蛋白激酶、MAPK/ ERK激酶(MEK)以及磷脂酰肌醇3-激酶(PI3-K)等通路[17],这些下游通路同时参与TGF-β通路的自身正反馈放大途径;其中MEK的激活可直接导致TβRⅡ表达上调[18],PI3-K激活可导致瘢痕疙瘩FB侵袭性增强[19];此外,PDGF-BB刺激可显著提升组蛋白乙酰化的水平[20],这一过程亦可诱导TβRⅡ表达[21]。可见PDGF通路与TGF-β通路在伤口愈合过程中是相互协调的,这种平衡一旦被打破,就有可能造成伤口过度愈合或不愈合;而NFI-C紧密联系着这两条通路的相互作用。

本研究采用慢病毒载体转染FB,相对于腺病毒载体具有表达时间长、宿主免疫反应小、细胞毒性小、能转染非分裂细胞等优势,利于在转染之后筛选得到高纯度的过表达细胞株。结果显示,FB在转染后可稳定表达NFI-C;在PDGF-BB刺激下,NFI-C转染的FB表达TβRⅡ明显低于阴性病毒组和PDGF组;但在没有PDGF的条件下,NFI-C转染并不影响TβRⅡ的基础性表达;而阴性病毒组和PDGF组之间的差异无统计学意义,表明NFI-C可显著抑制PDGF导致的TβRⅡ上调,降低FB对TGF-β的敏感性,且慢病毒转染本身不具有这种抑制作用。国外研究表明PDGF可上调TβRⅡ mRNA稳定表达,进而提升其蛋白水平[4-5];在本实验中,NFI-C使PDGF作用后的FB表达TβRⅡ mRNA水平下降程度大于其蛋白水平,表明NFI-C主要在转录水平抑制PDGF对TβRⅡ的上调作用。其机制还不清楚,笔者推测NFI-C可能通过与抑制上述的PDGF下游信号通路、与转录因子竞争性结合TβRⅡ基因启动子位点或者募集转录抑制因子等途径来抑制TβRⅡ基因表达[11]。此外,PDGFR的α、β链可激活不同的通路,且在伤口愈合过程中PDGFR β链的表达显著高于α链[4];而敲除NFI-C的细胞主要表现为PDGFR α链的上调[6];因而PDGF促进TβRⅡ表达的确切途径以及NFI-C在这两条通路之间作用的具体机制仍十分复杂,有待进一步研究。

综上所述,慢病毒载体介导的NFI-C能有效抑制PDGF上调皮肤FB表达TβRⅡ,从而降低其对TGF-β的敏感性,这一结果为改善瘢痕形成提供1种新的潜在干预分子,并为今后临床抗瘢痕的基因治疗提供新思路。PDGF及TGF-β通路是创伤后的两条关键通路,过度激活或者过度抑制分别会导致伤口的过度愈合或不愈合,因此如何控制基因转染之后NFI-C对PDGF及TGF-β通路的抑制作用在一个适当范围内,使其不至于作用过度而影响伤口正常愈合依然需要研究。与以往敲除性实验不同,本研究首次构建NFI-C过表达细胞株,这对细胞的其他影响尚不明确,将来可行动物实验进一步探讨其安全性和有效性。

**参考文献:**

[1] Walraven M, Gouverneur M, Middelkoop E, et al. Altered TGF-β signaling in fetal fibroblasts: what is known about the underlying

mechanisms?[J]. Wound Repair Regen, 2014, 22(1): 3-13.
[2] Gordon KJ, Blobe GC. Role of transforming growth factor-beta superfamily signaling pathways in human disease[J]. Biochim Biophys Acta, 2008, 1782(4): 197-228.
[3] Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines[J]. Physiol Rev, 2003, 83(3): 835-70.
[4] Czuwara-Ladykowska J, Gore EA, Shegogue DA, et al. Differential regulation of transforming growth factor-beta receptors type I and Ⅱ by platelet-derived growth factor in human dermal fibroblasts[J]. Br J Dermatol, 2001, 145(4): 569-75.
[5] Tiede S, Ernst N, Bayat A, et al. Basic fibroblast growth factor: a potential new therapeutic tool for the treatment of hypertrophic and keloid scars[J]. Ann Anat, 2009, 191(1): 33-44.
[6] Plasari G, Calabrese A, Dusserre Y, et al. Nuclear factor I-C links platelet-derived growth factor and transforming growth factor beta1 signaling to skin wound healing progression[J]. Mol Cell Biol, 2009, 29(22): 6006-17.
[7] Lee DS, Yoon WJ, Cho ES, et al. Crosstalk between nuclear factor I-C and transforming growth factor-β1 signaling regulates odontoblast differentiation and homeostasis[J]. PLoS One, 2011, 6 (12): e29160.
[8] Tan WQ, Gao ZJ, Xu JH, et al. Inhibiting scar formation in vitro and in vivo by adenovirus-mediated mutant Smad4: a preliminary report [J]. Exp Dermatol, 2011, 20(2): 119-24.
[9] 张 涛, 荣新洲, 杨荣华, 等. 积雪草苷对增生性瘢痕中转化生长因子-β mRNA及基质金属蛋白酶类表达的影响[J]. 南方医科大学学报, 2006, 26(1): 67-70.
[10] Russo LM, Brown D, Lin HY. The soluble transforming growth factor-beta receptor: advantages and applications[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2009, 41(3): 472-6.
[11] Gronostajski RM. Roles of the NFI/CTF gene family in transcription and development[J]. Gene, 2000, 249(1/2): 31-45.
[12] Steele-Perkins G, Butz KG, Lyons GE, et al. Essential role for NFI-C/CTF transcription-replication factor in tooth root development[J]. Mol Cell Biol, 2003, 23(3): 1075-84.
[13] Plasari G, Edelmann S, Högger F, et al. Nuclear factor I-C regulates TGF-{beta}-dependent hair follicle cycling[J]. J Biol Chem, 2010, 285(44): 34115-25.
[14] Armour A1, Scott PG, Tredget EE. Cellular and molecular pathology of HTS: basis for treatment[J]. Wound Repair Regen, 2007, Suppl 1: S6-17.
[15] Abdollahi A, Li M, Ping G, et al. Inhibition of platelet-derived growth factor signaling attenuates pulmonary fibrosis[J]. J Exp Med, 2005, 201(6): 925-35.
[16] Chen YT, Chang FC, Wu CF, et al. Platelet-derived growth factor receptor signaling activates pericyte-myofibroblast transition in obstructive and post-ischemic kidney fibrosis[J]. Kidney Int, 2011, 80(11): 1170-81.
[17] Trojanowska M. Role of PDGF in fibrotic diseases and systemic sclerosis[J]. Rheumatology (Oxford), 2008, 47(Suppl 5): v2-4.
[18] Chen G, Ghosh P, Longo DL. Distinctive mechanism for sustained TGF-β signaling and growth inhibition: MEK1 activation-dependent stabilization of type Ⅱ TGF-β receptors[J]. Mol Cancer Res, 2011, 9(1): 78-89.
[19] Song J, Xu H, Lu Q, et al. Madecassoside suppresses migration of fibroblasts from keloids: involvement of p38 kinase and PI3K signaling pathways[J]. Burns, 2012, 38(5): 677-84.
[20] Azahri NS, Di Bartolo BA, Khachigian LM, et al. Sp1, acetylated histone-3 and p300 regulate TRAIL transcription: mechanisms of PDGF-BB-mediated VSMC proliferation and migration[J]. J Cell Biochem, 2012, 113(8): 2597-606.
[21] Zhao B, Chen YG. Regulation of TGF-β Signal Transduction[J]. Scientifica (Cairo), 2014, 2014: 874065.

（编辑：吴锦雅）